

В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертацію Гуди Богдана Богдановича
«Високодиференційований рак щитоподібної залози: молекулярно-біологічні та клінічні аспекти, оптимізація хірургічного лікування та післяопераційної реабілітації пацієнтів», подану до спеціалізованої вченої ради Д 26.558.01 ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія

Актуальність теми дослідження. Поширеність пухлин високо диференційованого раку щитоподібної залози у всьому світі за даними статистичних досліджень постійно зростає. Причини різні і серед них провідними виділяють екологічну глобальну ситуацію, техногенні аварії і інші. Проте для медицини важливими теоретичними і практичними питаннями є дослідження клінічних і онкологічних характеристик диференційованих раків щитоподібної залози. Зокрема це стосується вивчення у віковому і гендерному аспектах частоти диференційованих раків загалом і папілярного та фолікулярного зокрема, особливостей їх клінічного перебігу у випадках моно чи мультифокального росту, місцевих і віддалених метастазів, ролі генетично індукованих впливів, розвитку і клінічного перебігу цих раків на фоні автоімунної патології залози. Останнім часом значної наукової популярності у вивченні канцерогенезу раків щитоподібної залози набувають питання вивчення молекулярно-біологічних порушень у фолікулярному епітелії. Поряд з встановленими соматичними точковими мутаціями у генах *BRAF* і *RAS*, перебудовами генів *RET*, виявляють все нові й нові мутаційні, епігенетичні чи метаболічні зміни у клітинах пухлинах щитоподібної

залози, які самі по собі є унікальними моделями для вивчення генетичних і молекулярних порушень в ході канцерогенезу.

Стосовно України і світової медичної науки вивчення клінічних, онкологічних, генетичних аспектів диференційованих раків щитоподібної залози особливо актуальні у зв'язку з масивним радіаційним забрудненням значної частини території держави і його пролонгованого в часі впливу на їх клініко онкологічні характеристики. Потребують уточнення і вивчення питання хірургічного лікування диференційованих раків в залежності від стадії і поширеності пухлинного процесу. Зокрема це стосується розробки і застосування малоінвазивних технологій в хірургічному лікуванні і органозберігаючих операційних втручань у випадках диференційованих раків залози. Разом з цим, невизначеність радіогенного статусу карцином, яка є актуальною для України, потребує уточнення і перегляду питань лікувальної тактики і лікування з використанням радіоактивного йоду в залежності від клініко – морфологічної характеристики пухлини і пухлинного процесу, статі і віку пацієнтів.

Саме вивченню цих актуальних питань проблеми високо диференційованих раків щитоподібної залози і присвячене дисертаційне дослідження Б.Б. Гуди.

Мета і завдання дослідження чітко визначені, конкретні і по своїй суті відповідають назві дисертації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідницьких робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»: № 503 «Розробка методів хірургічного лікування пухлин залоз внутрішньої секреції» (НД №0114U002149, 2014-2016 рр.); № 517 «Розробка індивідуальних алгоритмів

хірургічного лікування пухлин щитоподібної залози, надниркових залоз, первинного та вторинного гіперпаратиреозу» (НД № 0117U000475, 2017-2019 рр.); № 522 «Визначення рівня проліферативних процесів та стану мітогенного сигнального каскаду у нормальних тканинах, доброякісних і злоякісних пухлинах щитоподібної залози та надниркових залоз людини» (НД № 0117U000480, 2017-2019 рр.).

Наукова новизна одержаних результатів. Отримані автором результати досліджень в багатьох позиціях за новизною можна вважати пріоритетними. Дисертантом встановлена різниця в характері поширеності карцином з різними клініко онкологічними характеристиками серед хворих, які на момент аварії на ЧАЕС були дорослими, дітьми чи підлітками, та пацієнтів, народжених вже після аварії.

Підтверджено, що одночасно з підвищенням віку пацієнтів, які на момент аварії були дітьми чи підлітками, прогресивно зростає поширеність папілярних мікрокарцином і зменшення відсотка хворих з високим ризиком рецидивів та підвищенням частки пацієнтів з позитивним прогнозом.

Встановлено, що папілярна карцинома у молодих пацієнтів пов'язана з метастазуванням до лімфовузлів шиї, а з підвищенням віку хворих – з частішими проявами інвазійних характеристик карцином. Для фолікулярних карцином така закономірність відсутня.

Вперше показано, що супутній хронічний тиреоїдит змінює біологічні характеристики пухлини і має позитивний ефект для перебігу і прогнозу захворювання.

Встановлено, що біологічні й клінічні характеристики папілярних і фолікулярних карцином щитоподібної залози є чинниками прогнозу. Вперше показано, що гістологічний тип мікрокарцином без агресивних характеристик у пацієнтів до 40 років не є важливим для прогнозу.

Автором вперше встановлено, що знижені експресія та активність ключових кіназ сигнальних шляхів RAS/RAF/MEK/ERK і PI3K/PDK/Akt в тканині диференційованих карцином вказує на існування механізмів, які спрямовані на захист пухлини від зупинки клітинного циклу та апоптозу.

Теоретичне значення дослідження полягає у з'ясуванні нових механізмів канцерогенезу; визначенні чинників, які мають значення для прогресії злоякісного росту у щитоподібній залозі і які впливають на перебіг і прогноз хвороби; обґрунтуванні та удосконаленні змін лікувальної тактики з використанням радіоактивного йоду, удосконаленні і розробці методів хірургічного лікування.

Практичне значення отриманих результатів. Встановлення прогностичних чинників перебігу диференційованих раків щитоподібної залози сприяє покращенню результатів діагностики і лікування, зменшенню економічних витрат.

Розроблений спосіб міні інвазійного хірургічного втручання на щитоподібній залозі дозволяє зменшити негативні післяопераційні явища, прискорити післяопераційну реабілітацію та покращити наслідки операції в плані косметичного та психологічного ефектів.

Запропоновані зміни до протоколу проведення радіоїодтерапії дозволяють у частини хворих обмежитися лише проведенням радіоїод діагностики, що зменшує радіоактивне навантаження на хворих, прискорює досягнення еутиреоїдного стану, сприяє покращенню якості життя хворих.

Обґрунтованість і вірогідність наукових положень, висновків і рекомендацій. Висновки базуються на результатах проведених досліджень у 5526 осіб. Період спостереження 20 років. При виконанні роботи використані сучасні високоінформативні, в тому числі і молекулярно-біологічні методи досліджень, а кількість хворих за окремими напрямками досліджень достатня для

статистичного аналізу, обґрунтування висновків і рекомендацій. Так зразки тканин пухлин і позапухлинної тканини залози 34 пацієнтів використані в молекулярно-біологічних дослідженнях; спосіб міні інвазійного втручання на щитоподібній залозі апробований на групі пацієнтів, що склала 60 осіб, а аналіз результатів щодо змін протоколу радіоїод-діагностики чи радіоїод-абляції – виконаний на групі хворих з 94 пацієнтів. Статистичну обробку даних проводили за використання низки статистичних критеріїв (критерій узгодженості розподілів χ^2 Пірсона, непараметричний Log-rank тест, t-критерій Стюдента, непараметричний критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні) Отримані дані оброблені статистично за допомогою пакету комп'ютерних програм «Statistica 12 by StatSoft, Inc.

Структура і зміст дисертації. Дисертацію викладено на 341 сторінці друкованого тексту (283 сторінки основного тексту) за традиційною схемою. Робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу та методів досліджень, 10 розділів результатів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який налічує 530 посилань і займає 58 сторінок. Текст дисертації проілюстровано 69 таблицями, 51 рисунком та 2 схемами. В усіх розділах міститься прикінцевий висновок та посилання на відповідні публікації автора.

У *вступі* обґрунтована актуальність роботи, чітко сформульовано мету та завдання дослідження, показані наукова новизна практичне і теоретичне значення роботи.

Розділ 1 (огляд літератури) містить 2 підрозділи. В першому стисло наведені найбільш вагомні дані щодо основних проблем диференційованого раку щитоподібної залози: епідеміологія, класифікація, діагностика, лікування, прогноз. Другий підрозділ присвячений висвітленню сучасних молекулярно-біологічних

механізмів канцерогенезу. Широка ерудиція автора з досліджуваної проблеми, вказує на його спроможність згрупувати, проаналізувати велику кількість існуючих сучасних даних і відокремити нез'ясовані питання для подальших власних досліджень.

Розділ 2 (матеріал і методи досліджень). В розділі детально описаний матеріал, на якому проведені дослідження, та методи, що використані для досягнення мети роботи. Насамперед, це когорта пацієнтів, прооперованих з приводу раку щитоподібної залози з 1995 по 2014 роки. Пацієнти проаналізовані за низкою показників: вік, стать, гістологічний тип пухлини, розміри та характеристика карцином за TNM, клінічна стадія, обсяг операції, кількість балів за прогностичною шкалою MACIS, група ризику, частота рецидивів, кількість курсів радіоїодного лікування, результат лікування та термін післяопераційного спостереження.

Описані методи екстрації РНК, визначення її кількості та чистоти, методи зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі для визначення мутацій та перебудов генів, імуноферментні методи визначення експресії PCNA і PARP, активності та/чи активації ключових кіназ сигнальних шляхів RAS/RAF/MEK/ERK і PI3K/PDK/Akt.

В розділі 3 представлені дані щодо загальних характеристик когорти хворих на рак щитоподібної залози. Отримані дані доводять, що поширеність фолікулярних карцином з агресивнішими гістологічними характеристиками (інвазійність, метастазування, багатофокусний характер росту) нижча, ніж відповідних папілярних. Проте, поширеність фолікулярних карцином великого розміру, а також відсоток хворих з фолікулярними карциномами старшого віку вища, ніж пацієнтів з папілярним раком.

Розділ 4 присвячений опису та аналізу динаміки поширеності карцином щитоподібної залози серед пацієнтів когорти впродовж 20 років спостереження. За результатами аналізу автором показано, що з плином часу для папілярних карцином змінилися гендерні співвідношення (зменшився відсоток чоловіків), віковий статус пацієнтів, розміри пухлин, відсоток карцином категорії T, частота метастазуючих пухлин (зросла частота пухлин категорії N1a при зменшенні карцином категорії N1ab), частота інвазійних карцином. За цей час змінилася і тактика хірургічного втручання (відсоток виконання тотальної тиреоїдектомії збільшився до 70 %), та радіоїодного лікування (зменшився відсоток хворих, яким процедуру радіоїод-терапії виконували тричі чи більше разів).

Проведений аналіз дозволив автору зробити висновок що вплив радіаційного опромінення позначився на виникнення саме папілярних карцином, характеристики яких змінюються з часом, який пройшов від аварії на ЧАЕС.

Автором показано, що поширеність папілярних карцином з агресивнішими характеристиками виявилася вищою саме у хворих, вік яких на момент операції не перевищував 18 років, що цілком відповідає сучасним уявленням, які доводять, що за епідеміологічними, патологічними і клінічними характеристиками радіаційно-індукований папілярний рак дійсно нагадує спорадичний як з точки зору клініко-патологічних особливостей, так і прогнозу.

Розділ 5. В розділі представлені результати досліджень залежності частоти поширеності у когорті хворих з папілярними та фолікулярними карциномами, що різняться за розміром, чинниками агресивності, а також за віком і статтю пацієнтів. Основними висновками з цих досліджень є такі: 1) більша поширеність папілярних карцином з агресивними характеристиками спостерігається у двох

вікових категоріях – до 18 років і понад 60 років, а фолікулярних – у хворих понад 60 років; 2) у чоловіків частіше, ніж у жінок діагностують агресивніші карциноми, тяжчі стадії хвороби, вищу смертність, особливо значно у осіб старших за 60 років; 3) агресивність папілярних карцином щитоподібної залози підвищується зі збільшенням їх розміру, проте ця закономірність не зазначена для фолікулярних; 4) при одночасному аналізі впливу трьох чинників (стать, вік пацієнтів, розмір пухлини) встановлено, що для молодих пацієнтів підвищення розміру папілярних карцином пов'язано з вищою частотою метастазування до лімфовузлів шиї, а з підвищенням віку хворих – з частішими проявами інвазійних характеристик карцином. Ці процеси модулюються таким чинником як стать особи, бо у чоловіків ці закономірності менш чіткі.

Розділ 6. В цьому розділі представлені характеристики карцином щитоподібної залози, які асоційовані з хронічним тиреоїдитом у позапухлинній тканині. Встановлено, що наявність хронічного тиреоїдиту в позапухлинній тканині щитоподібної залози пацієнтів з диференційованими карциномами має позитивний ефект на перебіг онкологічного захворювання: такі характеристики карциноми як розмір, її інвазійний чи метастатичний потенціал свідчать про меншу агресивність пухлини, а зменшення відсотка хворих у групі високого ризику рецидивів – про кращий прогноз захворювання. У разі фолікулярної карциноми цей позитивний вплив виражений яскравіше.

У **розділі 7** висвітлені результати аналізу поширеності мультифокальних диференційованих карцином щитоподібної залози з різними клініко онкологічними характеристиками, до яких в останній час привернута значна увага дослідників. Встановлено, що папілярні мультифокальні карциноми становлять

п'яту частину від усіх диференційованих, вони частіше зустрічаються у пацієнтів похилого віку і супроводжують пухлини розміром понад 20 мм, які мають категорію N1ab чи метастазують віддалено. Мультифокальний ріст фолікулярних карцином зустрічається рідше ніж папілярних. Як і для папілярних, для фолікулярних карцином наявність багатофокусного пухлинного росту є чинником, що частіше супроводжує агресивні ознаки пухлин, є несприятливим щодо клінічних характеристик хвороби, супроводжується вищою смертністю пацієнтів і, отже, потребує відповідної лікувальної тактики.

Глава 8 присвячена визначенню чинників, що мають значення для прогнозу виживання пацієнтів з диференційованими карциномами щитоподібної залози. Слід зазначити, що автором проведена значна робота по аналізі 17 чинників, які можуть бути прогностичними як для загальної групи хворих з диференційованими карциномами, так і окремо для фолікулярних і папілярних карцином.

Встановлено, що переважна більшість з них (вік, стать пацієнтів, розмір і категорії пухлин, їх інвазійні характеристики, клінічні особливості, включаючи обсяг оперативного втручання, частота рецидивів тощо) є прогностичними чинниками.

У главі 9 представлені результати ретроспективного аналізу рівня ТТГ у крові хворих з тиреоїдними карциномами. Такі дослідження в останні роки проводять в різних лабораторіях світу, зважаючи на новітні висновки про можливу участь тропного гормону у процесах канцерогенезу вже існуючих вузлів щитоподібної залози чи при наявності в тканині останньої хронічного тиреоїдиту, а також у механізмах прогресії пухлинного росту. Дані, отримані автором, свідчать про те, що рівень гормону не виходить за межі референтних значень. Про

те порівняно вищий вміст його спостерігається у хворих жіночої статі у разі поєднання метастазів до лімфовузлів з інтра- та екстратиреоїдною інвазією. На думку автора це зумовлено тим, що естрогени залучені до реалізації впливу ТТГ на механізми, що обумовлюють його роль у прогресії пухлинного росту.

У *главі 10* наведено результати молекулярно-біологічних досліджень, які проведені на субопераційному матеріалі тканин щитоподібної залози. Результатом дослідження було встановлення можливих шляхів впливу на канцерогенез чи які мають значення у набутті пухлини агресивніших характеристик. Показано, що підвищена проліферативна активність трансформованих тиреоцитів сполучається з відсутністю активації апоптичної їх загибелі, що сприяє як росту пухлини, так і її агресивності. При цьому активність кіназ мітогенного каскаду RET/RAS/RAF/MEK/ERK, який пов'язує сигнали факторів росту на рецепторах клітинної поверхні з транскрипційними факторами в тканині папілярних і фолікулярних карцином знижена. Цю невідповідність автор пояснює існуванням так званої «токсичності онкогенів», механізмів, що перешкоджають загибелі трансформованих клітин. При обговоренні цих даних дисертант представив схему, яка ілюструє можливість існування таких механізмів у тиреоїдних карциномах.

У цій же главі представлені дані щодо змін експресії, наявності мутацій та перебудов деяких генів. Встановлено, що вища інтенсивність експресії *RET/PTC1* і *RET/PTC3* спостерігається одночасно у тканині неінкапсульованих папілярних карцином, а одночасну перебудову *RET/PTC1* і підвищену експресію немутованої протеїнкінази BRAF (*B-RAF^{wt}*) – у тканині агресивної, мультифокальної, оксифільноклітинної папілярної карциноми.

Глава 11 присвячена розробці технології міні інвазійного хірургічного втручання на щитоподібній залозі за наявності карциноми. Наводиться обґрунтування технології і методика її виконання. Представлені дані свідчать про високу професійну підготовку автора та його спрямованість на виконання мінімально травматичних операцій, мінімізації негативних наслідків зокрема загально хірургічних ускладнень, косметичного та психологічного ефектів.

У главі 12 автор розглядає питання перегляду протоколу проведення радіоїодного лікування хворих з папілярною карциномою. Практичне значення таких змін полягає у тому, що у випадках відсутності накопичення радіофармпрепарату у ділянці проекції щитоподібної залози після хірургічного лікування, відсутності підвищеного рівня онкомаркерів і патологічних змін в ділянці операції за даними УЗД подальше лікування з використанням радіо йоду проводити не доцільно. В інших випадках автор підтримує рекомендації протоколу, який на сьогодні є дійсним у практиці післяопераційного лікування.

Матеріал, що викладений у главах власних досліджень документовано великою кількістю змістовних таблиць, графіків, гістограм, фотографій, схем (загальна кількість 122), які підтверджують вірогідність отриманих результатів. Слід додати, що кожний розділ власних досліджень завершується відповідними «резюме», в яких стисло і вдало підсумовано отримані результати порівняно з даними літератури.

В 13 розділі дисертант провів узагальнення отриманих результатів проведених досліджень. Автор використав порівняльний аналіз результатів власних досліджень з сучасними даними літератури. Матеріали розділу свідчать про глибоку наукову обізнаність автора, який цілісно і вміло представляє результати власних досліджень, окреслює невирішені проблеми, акцентує можливість практичних нововведень у практику хірургічного та

післяопераційного лікування хворих з диференційованими карциномами щитоподібної залози.

Висновки дисертації повністю базуються на результатах власних досліджень. Вони лаконічні, конкретні і в повній мірі відображають виконання мети і завдань дисертаційного дослідження. Практичні рекомендації виходять з результатів дослідження. Їх впровадження безумовно буде сприяти суттєвому покращенню результатів лікування хворих на рак щитоподібної залози. Список цитованої літератури представлено у відповідності до вимог сучасної бібліографії і складає 531 посилання.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 42 наукові праці, а саме: 27 статей (з них: 20 публікацій у наукових фахових виданнях України та інших держав, з яких 3 публікації у наукових періодичних виданнях інших держав та 3 публікації у виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз), 2 патенти, 2 інформаційні листи, 11 тез доповідей у матеріалах наукових форумів. 7 статей опубліковано у виданнях, які віднесені до 3 чи 4 квартилю.

Зміст автореферату повністю відображає зміст дисертації.

Зауваження та запитання, що виникли під час перегляду дисертації та автореферату. Принципових зауважень до дисертації щодо її суті та за формою немає. Вважаю, що в огляді літератури доцільно було б розглянути питання розробки і впровадження нових хірургічних технологій у хірургічному лікуванні раку щитоподібної залози та питання післяопераційної радіоїодтерапії і щодо зміни її протоколів, які пропонуються Американською та Європейською тироїдними асоціаціями.

При рецензуванні роботи виникли дискусійні запитання, на які хотілося б отримати відповідь:

1. Щодо впровадження малоінвазивної технології хірургічного лікування – чи залежить довжина розрізу від розмірів пухлини? Якщо так, то який принцип визначення довжини розрізу, чи він є усталеним?
2. Яке діагностичне і прогностичне значення у чоловіків і жінок, хворих на рак, має доопераційне визначення рівня тиреотропного гормону?
3. Як розуміти Вашу рекомендацію: «у випадках незначної або повної відсутності накопичення радіофармпрепарату». Що означає незначна відсутність і як поступати в таких випадках стосовно радіойодтерапії?

Хотів би ще особливо наголосити на тому, що Б.Б. Гуда виконав наукове дослідження яке базується на стику декількох розділів медичних і біологічних наук: ендокринології, хірургії, молекулярної біології, епідеміології, радіології. І до честі автора, він достойно справився з поставленим завданням.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Результати проведених досліджень є важливими для розуміння молекулярно-біологічних процесів, що лежать в основі канцерогенезу щитоподібної залози. Вони є теоретичним підґрунтям для подальших досліджень. Практичні рекомендації для впровадження в практику дозволять удосконалити хірургічне та радіойодне лікування пацієнтів з диференційованими карциномами щитоподібної залози.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. На підставі вищевказаного вважаю, що дисертаційна робота Гуди Богдана Богдановича на тему: «Високодиференційований рак щитоподібної залози: молекулярно-біологічні та клінічні аспекти, оптимізація хірургічного лікування та післяопераційної реабілітації пацієнтів», є самостійним закінченим дослідженням, яке містить нові науково обґрунтовані результати, які в сукупності вирішують актуальну наукову проблему лікування хворих на високо диференційований рак щитоподібної залози.

Дисертація за актуальністю, методичним рівнем виконання досліджень, обсягом клінічного матеріалу, науковою новизною отриманих результатів, ступенем обґрунтованості основних положень, повнотою їх викладу в опублікованих роботах, сформульованих висновків і рекомендацій, значущістю їх для медичної науки і закладів практичної охорони здоров'я повністю відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за фахом 14.01.14 – ендокринологія, медичні науки.

Офіційний опонент
Заслужений лікар України,
доктор медичних наук, професор,
професор кафедри хірургії № 1
з урологією, малоінвазивною
хірургією та нейрохірургією
ім. проф. Л.Я. Ковальчука
Тернопільського національного
медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського,
лауреат Державної премії



В.О. Шідловський



Особистий підпис _____

завіряю

Заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

